文章编号: 1673-1689(2007)01-0046-05

油茶肉质果、肉质叶提取液的保健功效

朱必凤, 彭凌, 罗莉菲

(韶关学院 英东生物工程学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 研究油茶肉质果、肉质叶提取液(EFF, EFY)的抗自由基、降血糖和抗癌作用。采用TBA比色法和小鼠红细胞氧化溶血抑制试验测定抗自由基作用;采用四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠模型,分别用EFF和EFY灌胃7d测定降血糖作用;利用H22移植性实体瘤的方法研究抗癌作用。EFF具有显著消除体内自由基及抗脂质过氧化作用,与维生素E抗自由基及脂质过氧化效果相同;对实验性糖尿病小鼠血糖有明显的降低作用,接近中药消渴丸的效果;能明显抑制小鼠H22移植性实体瘤的生长,油茶肉质果组的抑瘤率为54.9%,油茶肉质叶组的抑瘤率为30.2%,对动物白细胞、脾指数、胸腺指数无明显影响。EFF和EFY能有效控制糖尿病小鼠的血糖水平,维持正常代谢,对正常血糖小鼠无影响;具有提高SOD活性,清除自由基的作用;对癌症小鼠有显著的抑瘤效果,与已报道的20种具有显著抗癌作用的蔬菜相比,油茶肉质果排在第9位,油茶肉质叶排在第15位。

关键词: 肉质果;肉质叶;油茶;抗自由基;降血糖;抗癌

中图分类号: R 151.41

文献标识码: A

Study on Health Care Functions of Extract from Fleshy Fruit and Fleshy Leaf of *Camellia oleifera* Abel

ZHU Bi-feng, PENG Ling, LUO Li-fei

(Ying-dong College of Biotechnology, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

Abstract: The anti free-radical, antihyperglycemic and anti-tumor effect of the fleshy fruit (EFF) and fleshy leaf (EFY) extract on *Camellia oleifera* Abel were investigated. It was found that EFF, similar with that of vitamin E, could scavenging free radical and inhibit lipid per-oxidation. In alloxan-induced diabetic mouse, EFF and EFY could decreased the serum glucose level. However, the serum glucose level of the control mouse did not changed. Both EFF and EFY exhibited high SOD activity and free radical scavenge ability. By compared with that of the twenty vegetables, all of them exhibited anti-tumor significantly, EFF and EFY rate ninth and fifteenth, respectively.

Key words: fleshy fruit; fleshy leaf; *Camellia Oleifera* Abel; anti-free-radial; anti-hyperglycemic; anti-tumor

油茶(*Camellia Oleifera* Abel)的肉质果和肉质叶是中国南方农村的传统野生水果。油茶的肉质果和肉质叶是由一种真菌(担子菌)在春天时侵染

油茶引起幼嫩果、叶的基因表达发生变化,形成了变异而产生^[1-2]。肉质果桃形,中空,成熟前紫红色,成熟后白色。肉质叶叶肉膨大,厚度是普通幼

收稿日期: 2006-07-02.

基金项目: 广东省自然科学基金(06026957),香港霍英东基金(HK314-140436).

作者简介: 朱必凤(1955-),男,江西南康人,教授,主要从事生物化学与分子生物学研究. Email: bzfzhu@sgu.edu.cn

叶的 4~10 倍,成熟前紫红色或嫩白色,成熟后为白色,民间一直将其作为野生果食用,酸甜、脆嫩可口。产生肉质果和肉质叶的茶树为 25%~50%^[1-4],全国有油茶林 5500 万亩,按产肉质果、肉质叶 10 kg/亩计算,年产量有 55 万 t。作者以油茶肉质果和肉质叶为材料,测定了肉质果叶提取物的抗氧化、抗菌、降血糖和抗癌作用。

1 材料与方法

1.1 材料采集与处理

清明节前后在江西大余、南康、信丰等地,采集油茶成熟和未成熟的肉质叶、肉质果和正常油茶叶。酒精抽提(称取样品 250 g,捣碎,加水 500 mL,热回流 2 h,过滤,滤渣加 250 mL 95% 酒精,热回流 2 h,滤液和并减压浓缩,提取液中含生药量 1.0 g/mL)后,放于 -70 °C 冰箱中保存,供毒性实验、抑菌实验、抗氧化实验、降血糖、抗肿瘤实验用。

1.2 抗氧化试验

1.2.1 对羟基自由基的清除作用 参照文献 [3]。

1.2.2 对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞氧化溶血的抑制作用 小鼠摘眼球取血,制成抗凝血液,3 000 r/min 离心得红细胞,用生理盐水洗 3 次,制成体积分数 0.5% 的悬浮液,取该悬浮液 1 mL,加 50 μL 油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果提取液,最后加 1 mL 10 mmol/L H₂O₂ 启动反应,37 °C 作用 1 h,用生理盐水稀释 6 倍,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液测 415 nm 处 OD 值^[4]。

1.2.3 灌胃给药对小鼠血清中 MDA、SOD 生成的影响 NIH 小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只。1) 对照组(蒸馏水);2) 维生素 E(0.5 mg/kg);3) 油茶叶;4) 油茶肉质叶;5) 油茶肉质果。3 个样品组剂量均为 15 g 生药/kg,连续灌胃给药 7 d,每天 1 次,末次给药 4 h 后,取血清测定 SOD 活性及 MDA 的含量。

1.3 降血糖试验

采用四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的方法^[5],将新配制的 5% 四氧嘧啶水溶液按 200 mg/kg 的剂量对小鼠(禁食 12 h)进行腹腔注射,造成四氧嘧啶糖尿病模型(鼠禁食 12 h,选择空腹血糖大于 13 mmol/L,并出现多饮、多食、多尿者为糖尿病模型)。NIH 小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只。1) 对照组(蒸馏水);2) 消渴丸(1 g/kg);3) 油茶叶;4) 油茶肉质叶;5) 油茶肉质果。3 个样品组剂量均为 15 g 生药/kg,连续灌胃给药 7 d,每天 1 次,于

第 7 天给药前 12 h 禁食,第 7 天给药 2 h 后取血,测定血糖值。血糖测定采用葡萄糖氧化酶法^[6]。

1.4 抗肿瘤试验

1.4.1 抗癌试验 按文献 [7] 的方法进行。按 0.2 mL/只,腹股沟皮下接种 NIH 小鼠 40 只,雌雄各半,接种后随机分为 4 组,每组 10 只。1) 对照组(蒸馏水);2) 油茶叶;3) 油茶肉质叶;4) 油茶肉质果。3 个样品组剂量均为 15 g 生药/kg,接种 24 h 后称小鼠体重,每日灌胃给药,连续 10 d 给药,末次给药后次日处死,分别取出小鼠瘤块,称重。计算瘤块的抑制率并分别取出小鼠脾脏、胸腺称重,计算脾脏、胸腺指数。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均瘤重} - \text{实验组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\%$$

$$\text{胸腺(脾)指数} = \frac{\text{胸腺(脾)重}}{\text{体重}} (\text{mg/g})$$

1.4.2 对 H22 腹水瘤小鼠生存期的影响 无菌条件下抽取接种 8 d、生长良好的 H22 荷瘤小鼠腹水,无菌生理盐水稀释体积比至 1:1,按 0.2 mL/只腹腔接种,分组给药,停药后观察小鼠生存时间,计算生命延长率。

1.4.3 对 H22 移植性腹水瘤小鼠白细胞的影响 方法同抗癌实验,末次灌胃,次日眼眶取血检测血中白细胞数^[8,9]。

2 结果与分析

2.1 对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞氧化溶血的抑制作用

从图 1 可知,H₂O₂ 组的 OD 值远比对照组大,说明 H₂O₂ 能明显地引起红细胞溶血,即红细胞膜受到影响。当在 H₂O₂ 体系中加入油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果提取物后,溶血显著降低,说明油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果可抑制红细胞氧化作用,效果为油茶叶 > 油茶肉质果 > 油茶肉质叶。

图 1 对 H₂O₂ 诱导的小鼠红细胞氧化溶血的影响

Fig. 1 Effect of samples on hemolysis of mice RBC induced by H₂O₂

2.2 对小鼠血清 SOD、MDA 的影响

如表 1 所示,与对照组相比,油茶叶、油茶肉质果组 SOD 活性显著升高,MDA 含量显著降低($P < 0.01$),与维生素 E 组比较无显著差异,提示油茶叶、油茶肉质果提取液具有显著消除体内自由基及抗脂质过氧化作用,且与维生素 E 抗自由基及脂质过氧化具有等同作用。而油茶肉质叶组 SOD 活性和 MDA 含量与对照组均无显著差异($P > 0.05$)。

表 1 对小鼠血清 SOD、MDA 的影响

Tab.1 Effect to samples on the SOD and MDA in mouse blood serum

组别	动物数/只	剂量/(g/kg)	SOD 活性/(NU/mL)	MDA 含量/(mg/mL)
对照组	10	—	166.0 ± 3.198	7.04 ± 1.4318
维生素 E	10	0.5 mg	200.46 ± 30.580 [△]	4.29 ± 1.6954 [△]
油茶叶	10	15	198.21 ± 6.972 [△]	4.84 ± 0.3984 [△]
油茶肉质叶	10	15	170.44 ± 19.820*	6.24 ± 1.4994*
油茶肉质果	10	15	198.12 ± 24.560 [△]	4.13 ± 0.8075 [△]

注: * $P > 0.05$ $\Delta P < 0.01$.

2.3 提取液对正常小鼠血糖的影响

表 2 说明,油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果提取液对正常小鼠降血糖作用与对照组比较有一定降低,但其差异不明显。

表 2 油茶肉质果和肉质叶提取液对正常小鼠血糖的影响

Tab.2 Effect of the extract solution from the fleshy fruits and fleshy leaves on the blood glucose level in natural mouse

组别	剂量/(g/kg)	血糖浓度/(mmol/L)	血糖降低率/%
对照组	—	7.74 ± 1.6075	—
消渴丸	1	4.90 ± 0.7425 [△]	36.7
油茶叶	15	6.31 ± 0.6902*	18.5
油茶肉质叶	15	6.80 ± 0.0287*	12.1
油茶肉质果	15	6.30 ± 2.1695*	18.6

注: * $P > 0.05$, * * $P < 0.05$ $\Delta P < 0.01$.

2.4 提取液对实验性糖尿病小鼠血糖的影响

表 3 结果表明,油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果提取液与对照组比较,对实验性糖尿病小鼠血糖有不同程度的降低作用;油茶肉质叶、油茶肉质果提取液对实验性糖尿病小鼠血糖有明显降低作用

($P < 0.01$)接近阳性对照组(消渴丸)。油茶叶提取液对实验性糖尿病小鼠血糖有一定降低作用,但无明显差异。

表 3 提取物对实验性糖尿病小鼠血糖的影响

Tab.3 Effect of the extract solution from the fleshy fruits and fleshy leaves on the blood glucose lever in diabetic mouse

组别	剂量/(g/kg)	血糖浓度/(mmol/L)	血糖降低率/%
对照组	—	18.70 ± 1.95	—
消渴丸	1	8.19 ± 4.17 [△]	56.2
油茶叶	15	15.16 ± 3.84*	18.9
油茶肉质叶	15	8.46 ± 2.74*	54.8
油茶肉质果	15	9.39 ± 4.88*	49.8

注: * $P > 0.05$, * * $P < 0.05$ $\Delta P < 0.01$.

2.5 对 H22 移植性实体瘤的影响

油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果提取液能明显抑制小鼠 H22 移植性实体瘤的生长,如表 4 所示。油茶叶组的抑瘤率为 62.5%,油茶肉质叶组的抑瘤率为 30.2%,油茶肉质果组的抑瘤率为 54.9%,与对照组相比都有显著差异,说明油茶肉质果、肉质叶提取液具有较强抑制肿瘤的作用。对于脾指数、胸腺指数的影响见表 5,样品组与对照组比较有一定差异,但无明显差异。

表 4 对 S180 小鼠瘤重的影响

Tab.4 Inhibition effects of samples on H22 entity-tumor mouse

组别	动物数/只	剂量/(g/kg · d)	瘤重/g	抑瘤率/%
对照组	10	—	1.2696 ± 0.4630	—
油茶叶	10	15	0.4760 ± 0.2823 [△]	62.5
油茶肉质叶	10	15	0.8860 ± 0.5688**	30.2
油茶肉质果	10	15	0.5725 ± 0.2307 [△]	54.9

注: * $P > 0.05$, * * $P < 0.05$ $\Delta P < 0.01$.

表 5 样品对 H22 小鼠脾指数及胸腺指数的影响

Tab.5 Effect of samples on H22 entity-tumor mouse spleen index and thymus

组别	动物数/只	剂量/(g/kg)	脾指数	胸腺指数
对照组	10	—	5.42 ± 0.7335	1.37 ± 0.2324
油茶叶	10	15	5.01 ± 0.6850*	1.13 ± 0.1176
油茶肉质叶	10	15	5.13 ± 0.9469*	1.56 ± 0.3321
油茶肉质果	10	15	5.13 ± 1.2345*	1.50 ± 0.3656

注: * $P > 0.05$.

2.6 对 H22 腹水瘤小鼠生存期的影响

与对照组比较,油茶肉质叶、油茶肉质果组均能稍延长小鼠的生存时间,而油茶叶组则稍有缩短,但与对照组相比无明显差异。见表 6。

表 6 样品对 H22 腹水瘤小鼠生存时间的影响

Tab.6 Effect of samples on H22 ascites-tumor mouse life-time

组别	动物数/只	剂量/(g/kg)	平均生存时间/d	生命延长率/%
对照组	10	—	15.57 ± 3.61	—
油茶叶	10	15	14.86 ± 3.93 *	-4.56
油茶肉质叶	10	15	17.67 ± 2.34 *	13.49
油茶肉质果	10	15	17.33 ± 3.14 *	11.32

注: * $P > 0.05$ 。

2.7 对 H22 移植性腹水瘤小鼠白细胞的影响

如表 7 所示,与对照组相比,油茶肉质叶、肉质果组对小鼠白细胞都无明显的影响($P > 0.05$),而油茶叶组使受试小鼠白细胞下降($P < 0.01$),与环磷酸胺组相比,油茶肉质叶、肉质果组对白细胞的影响有显著差异($P < 0.01$)。

表 7 样品对 H22 腹水瘤小鼠白细胞的影响

Tab.7 Effect of samples on H22 ascites-tumor mouse leucocyte

组别	动物数/只	剂量/(g/kg)	白细胞浓度/($\times 10^9/L$)
对照组	10	—	26.13 ± 7.851
油茶叶	10	15	19.65 ± 3.041 **
油茶肉质叶	10	15	26.53 ± 0.813 *
油茶肉质果	10	15	27.48 ± 0.318 *

注: * $P > 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

3.1 抗氧化作用

研究发现:肉质叶、肉质果提取液可使小鼠体内 SOD 活性增强,脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的含量降低。表明油茶肉质果和肉质叶可以清除体内过多的氧自由基,有效延缓衰老过程中过氧化

造成的损伤,同时对 H_2O_2 引起的红细胞溶血有显著的抑制作用,提示油茶肉质叶、肉质果可能在防衰老、抗肿瘤和抗炎等方面有功效。油茶肉质果、肉质叶具有抗氧化作用,可能主要是由于其含有高于柑橘和西柿的维生素 C 有关。维生素 C 具有清除自由基,保护抗氧化酶的活性,从而减少自由基引发的脂质过氧化反应,保护细胞膜的完整性。同时,维生素 C 在机体胶原蛋白的特别三股螺旋形成中的脯氨酸羟基化起作用,减少羟基化酶和二硫异构酶的氧化,保证了机体组织的健康。

3.2 降血糖效果

实验结果表明,油茶肉质叶、油茶肉质果提取液对四氧嘧啶致糖尿病小鼠有明显的降血糖作用。油茶肉质果、肉质叶的提取液能对抗小鼠血糖升高,其作用机理可能是促进胰岛素分泌和增加周围组织及靶器官对糖的利用和转化。此外,有报道认为,样品中的微量元素(硒、铬、锌、镁等)也可调节糖尿病动物或糖尿病患者血糖,改善糖尿病症状^[10-12],样品中含有的这些微量元素可能起着辅助调节作用。

3.3 抗肿瘤作用

实验证明,正常油茶叶、油茶肉质叶、油茶肉质果都有抑癌效果。油茶叶抑制肿瘤生长最强,这可能与其茶皂素含量高有一定关系,但油茶叶在抑制肿瘤生长的同时,会明显降低小鼠白细胞数并且会稍微缩短受试小鼠的生存时间,可见油茶叶在发挥抑癌作用的同时,可能会损坏机体免疫功能。油茶肉质叶、肉质果组在抑制肿瘤生长的同时,对动物白细胞、脾指数、胸腺指数无明显影响。对比已报道的 20 种对癌症有显著抑制效应的蔬菜^[13],油茶肉质果(55%)排在第 9 位,抑癌效果超过胡萝卜(46.5%)、金花菜(37.6%)、芹菜(35.4%)、苜蓿(34.7%)和芥菜(32.9%);油茶肉质叶抑癌效果(30.2%)排在第 15 位,超过雪里蕻(29.8%)、西红柿(23.8%)、大葱(16.3%)、大蒜(15.9%)、黄瓜(14.3%)和大白菜(7.4%)。油茶肉质叶、肉质果中的较高叶酸含量可能有提高机体免疫功能,起到抗肿瘤作用,而无明显不良反应。

参考文献(References):

- [1] Hideyaki N, Masanohu A, Kunihei K, et al. Exobasidium dubium and *E. miyabei* sp. causing *Exobasidium* leaf blisters on *Rhododendron* spp. in Japan [J]. *Mycoscience*, 2003, 44: 1-9.
- [2] 刘爱英, 梁宗琪, 康冀川. 茶饼病菌分生孢子阶段分离培养及其发酵液对植物的刺激作用 [J]. 菌物系统, 2002, 21: 1-4.

(3):437-439.

LIU Ai-Ying, LIANG Zong-Qi, KANG Ji-Chuan. Isolation and culture of the conidial stage of *Exobasidium vexans* and stimulation of the fungal fermented liquid to plant [J]. *Mycosystema* 2002, 21(3):437-439. (in Chinese)

- [3] Wu Y J, Li W G, Zhang Z M, et al. Antioxidative activity of 4-oxy and 4-hydroxy-nitroxides in tissues and erythrocytes from rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1997, 18:150.
- [4] Smirnoff N, Cumbers Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. *phytochemistry*, 1989, 28(4):1057-1060.
- [5] 孙敬方. 动物实验方法学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2002.
- [6] 周序开. 葡萄糖氧化酶法测定血糖含量 [J]. 中华医学检验杂志, 1982(5):56.
Zhou Xu-kai. Determination of serum glucose by glucose oxidase [J]. *Chin J Med Lab Sci*, 1982(5):56-58. (in Chinese)
- [7] 陈群, 刘天骄. 银杏叶多糖的抗肿瘤和免疫调节作用 [J]. 中药药理与临床, 2003, 19(5):18-19.
Chen Qun, Liu Tianjiao. Studies on immunomodulatory and antineoplastic activities of polysaccharide isolated from *Ginkgo biloba* leaf (GBLP) [J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materialmedica*, 2003, 19(5):18-19. (in Chinese)
- [8] 何学斌, 曾伶, 薛存宽, 等. 壳多糖抗肿瘤作用及对荷瘤小鼠免疫功能影响的研究 [J]. 营养学报, 2003, 25(4):432-434.
He Xue-bin, Zhen Ling, Xue Cun-kuan, et al. The Experimental study of chitosan on antitumor and immune activity of tumor-bearing mice [J]. *Acta Nutrimenta Sinica* 2003, 25(4):432-434. (in Chinese)
- [9] 何亚娟, 李久香, 原俊. 魔芋对艾氏腹水癌 (EAC) 抑制作用的研究 [J]. 肿瘤防治研究, 2000, 27(3):197-199.
HE Ya-juan, LI Jiu-xiang, YUAN Jun. Inhibition of *Amorphophallus Konjac* for Ehrlich Ascites Cancer (EAC) [J]. *Cancer research on prevention and treatment*, 2000, 27(3):197-199. (in Chinese)
- [10] 许曼音, 陆广华, 陈名道, 等. 糖尿病学 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2003. 645.
- [11] Poucheret P, Verma S, Grynpa S M D. Vanadium and diabetes [J]. *Molecular & Cellular Biochemistry*, 1998, 188(1-2):73-80.
- [12] Barbegallo M, Dominguez L J, Galioto A, et al. Role of insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X [J]. *Molecular Aspects of Medicine* 2003, 24(1-3):39-52.
- [13] 张立明, 王庆美, 王荫蝉. 甘薯的主要营养成分和保健作用 [J]. 杂粮作物, 2003, 23(3):162-166.
Zhang Li-ming, Wang Qing-mei, Wang Yin-chi. The main nutrient components and health care function of sweet potato [J]. *Rain Fed Crops*, 2003, 23(3):162-166. (in Chinese)

(责任编辑:李春丽)